Lane Medical Library

STANFORD UNIVERSITY
15
MAR
1939
LIBRARY

Aus dem Pharmakologischen Institut der Ruprecht-Karl-Universität zu Heidelberg
Direktor: Professor Dr. Fr. Eichholtz

Weitere Untersuchungen über Ketonurie

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der Zahnheilkunde

einer Hohen Medizinischen Fakultät

der Ruprecht-Karl-Universität zu Heidelberg

vorgelegt von:

Arnold Daum

Zahnarzt

1938

Druck: Lengericher Handelsdruckerei, Lengerich i. W.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät.

Der Dekan:
Prof. Dr. H. Runge

Der Referent:
Prof. Dr. Fr. Eichholtz

Meinen lieben Eltern!

Weitere Untersuchungen über Ketonurie.

In einer Arbeit von Eichholtz und Ungerecht[1]) ist der Gedanke geäußert worden, daß von der Bernsteinsäure her eine Hemmung der azidotischen Stoffwechsellage erfolgen könne und zwar auf einem Umwege über eine Aktivierung des Eisens.

Einige Zeit später berichteten Koranyi und Szent Györgyi[2]), von ganz anderen theoretischen Voraussetzungen ausgehend, daß in der Tat die Bernsteinsäure in Fällen von diabetischer Azidosis wirksam ist. Dabei sollten so geringe Dosen genügen, — crk. 1 g täglich — daß diese Wirkung durch einen ganz anderen Mechanismus entstehen müßte, als etwa die der Kohlehydrate, und daß man daher eine katalytische Funktion dieser C_4 Dikarbonsäuren annehmen müsse. Nach Noorden[3]) hätte diese Entdeckung die des Insulins an Bedeutung noch übertroffen. Es hat sich aber inzwischen herausgestellt, daß die Behauptung von Szent Györgyi und Koranyi an keiner Stelle[4]) [5]) reproduziert werden kann, und die wissenschaftliche Welt sieht mit Spannung einer Aufklärung dieser Diskrepanz entgegen.

---

[1]) Eichholtz und Ungerecht: Naunyn-Schmiedebergs Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie 184. 605 1937.

[2]) Deutsche Medizinische Wochenschrift 1937 Nr. 27.

[3]) Wiener Klinische Wochenschrift 1937 Nr. 42.

[4]) Niels Poczka: Diabetesprobleme. Deutsche Medizinische Wochenschrift 1937 Nr. 40.

[5]) H. Dibold, L. Frey, F. W. Lapp: Bemerkungen zur Bernsteinsäuretherapie diabetischer Azidosen. Deutsche Medizinische Wochenschrift 1937. Nr. 40.

Anschließend an die Arbeit von Eichholtz und Ungerecht hatte schon vor der Publikation derjenigen von Koranyi und Szent Györgyi eine Untersuchung der antiazidotischen Wirkung der Bernsteinsäure durch Fräulein Beyler stattgefunden. In 3 Versuchsserien war nicht der geringste Einfluß der Bernsteinsäure auf Phloridzinazidosis gesehen worden. Nach Publikation der aufsehen-erregenden Arbeit von Szent Györgyi und Koranyi entstand die Frage, ob bei den völlig negativen Befunden von Fräulein Beyler vielleicht ein methodischer Fehler unterlaufen ist. Aus diesem Grunde wurden die Versuche noch einmal wiederholt.

Die Versuchsmethode war die gleiche, wie sie schon von Fräulein Beyler beschrieben wurde, nur stellt sie eine Modifikation einer Methode amerikanischer Autoren dar [6]).

Das Futter der Versuchstiere, die in Gruppen zu 3 Tieren gemeinsam gefüttert und behandelt wurden, bestand aus Sonnenblumensamen (bei Tieren mit durchschnittlichem Anfangsgewicht von 200 g 7,5 g pro Tier p. d.), als Getränk erhielten sie je 10 ccm Leitungswasser. Die Erzielung einer chronischen Phloridzinazidosis erfolgte durch subkutane Injektion einer 2,5%igen Phloridzinemulsion (625 mg Phloridzin in 25 ccm Olivenöl fein verrieben) und zwar an den ersten beiden Tagen je 0,4 ccm pro 100 g, an den folgenden Tagen je 0,2 ccm pro 100 g, jeweils am Abend. Vom 3. Tage ab erfolgte die Harnuntersuchung. Zur Bestimmung der Ketonurie erhielten die Tiere morgens je 5 ccm aqua dest. pro 100 g mit der Schlundsonde, und anschließend daran wurde bei den 3 Tieren gemeinsam 5 Stunden lang die Diurese verfolgt. Vom 5. Tage ab wurden die Tiere 3 Tage mit Bernsteinsäure folgendermaßen behandelt: mengenmäßig erhielten sie 20 mg% p. d. Von einer 0,4%igen Bernsteinsäurelösung wurden 5 ccm auf 100 g Tier gegeben, eine Hälfte abends, die andere am nächsten Morgen mit dem aqua dest. per os. Nach 3 Tagen folgten 2 Normaltage ohne Bersteinsäurefütterung, und darauf wurde

[6]) Anderson, A. B. a. Anderson, M. D. Biochem. Journ. 1927, 21 II, S. 1398.

wieder 3 Tage lang, diesmal mit doppelter Dosis, also 40 mg%, Bernsteinsäure gefüttert. Die Harnuntersuchung selbst erfolgte nach der Methode von van Slyke, die auf Fällung des Azetons unmittelbar im Harn mittels eines Quecksilberreagenses beruht; der Niederschlag wird gravimetrisch gemessen; die β-Oxybuttersäure kann hierbei in gleichem Arbeitsgang durch Oxydation mit Kaliumbichromat und Schwefelsäure nach Shaffer in Azeton übergeführt werden. Der Arbeitsgang ist folgender: Aus der gelieferten filtrierten Harnmenge werden 10 ccm herauspipettiert in einen 100 ccm Meßkolben mit 40 ccm aqua dest. verdünnt und mit 20 ccm einer 20 %igen Kupfersulfatlösung versetzt; dann werden 20 ccm einer 10-%igenCalciumhydroxydaufschwemmung zugesetzt, gut durchmischt und der Inhalt mittels Lackmuspapier auf alkalische Reaktion geprüft. Ist letzteres noch nicht der Fall, wird noch etwas Calciumhydroxyd dazugegeben, nochmals geprüft und der Meßkolben mit aqua dest. bis zur Marke aufgefüllt.

Der Inhalt muß mindestens eine halbe Stunde stehen, hierauf wird er filtriert. Diese Vorbehandlung des Harns bewirkt eine Entfernung seines Gehalts an Traubenzucker bis zu 8 %. Dem Harnfiltrat, das durchweg aus 52—53 ccm Flüssigkeit besteht, werden zwei mal 25 ccm entnommen, damit an Hand einer Doppelbestimmung die Richtigkeit des Ergebnisses einigermaßen kontrolliert werden kann. In einem 500 ccm Erlenmeyer-Kochkolben, der mittels durchbohrtem Gummistopfen mit einem Rückflußkühler in Verbindung steht, werden 25 ccm des Harnfiltrats, 50 ccm aqua dest., 10 ccm einer 50%igen Schwefelsäure und 35 ccm einer 10%igen Quecksilbersulfatlösung zum Sieden gebracht. Nach Aufsteigen der ersten Blasen werden durch das Kühlrohr 5 ccm einer 5%igen Kaliumbichromatlösung und weitere 50 ccm aqua dest. hinzugegeben. Der Kochprozeß muß mindestens eine und eine halbe Stunde lang dauern. Nach dem Kochen wird der entstandene Niederschlag durch ein Glaßfiltertiegel (Schott Jena) abfiltriert, mit 200 ccm aqua dest. gewaschen, im Trockenschrank bei 110°

eine Stunde lang getrocknet, darauf ohne Anwendung eines Exsiccators an der Luft stehen gelassen und dann gewogen. Das Ergebnis des Versuchs wurde in Kurvenform dargestellt.

Es wird zunächst ein Versuch von Fräulein Beyler wiedergegeben:

	Zugabe	Diurese in ccm (3 Tiere)	Gesamtazetonkörper in mg
1. Tag			
2. Tag			
3. Tag		8,2	4,24
4. Tag		9,3	2,23
5. Tag		11,1	8,44
6. Tag		13,3	3,66
7. Tag	0,5 g bernsteinsaures Na	11,7	1,97
8. Tag		14,3	21,91
9. Tag		11,8	5,59
10. Tag		10,8	3,67
11. Tag	0,5 g bernsteinsaures Na	7,8	7,53
12. Tag		7,8	1,54
13. Tag		8,9	2,3

Als Beispiel unserer eigenen Versuche wird die folgende Tabelle wiedergegeben:

	Zugabe	Diurese in ccm (3 Tiere)	Azetonkörper in 5 ccm Harn
1. Tag			
2. Tag			
3. Tag		12	1,9 mg
4. Tag		14	2,3 mg
5. Tag	20 mg Bernsteinsäure pro 100 g	11	2,0 mg
6. Tag	„	12	1,9 mg
7. Tag	„	11	1,8 mg
8. Tag		13	2,4 mg
9. Tag		12	3,1 mg
10. Tag	40 mg Bernsteinsäure pro 100 g	13	2,6 mg
11. Tag	„	11	2,5 mg
12. Tag	„	12	2,4 mg

Wir können demnach den Beylerschen Versuch bestätigen und konnten auch unsererseits bei der Phloridzinazidosis keinen Einfluß der Bernsteinsäure feststellen. Diese Versuche sind so eindeutig, daß man sie wohl als Bestätigung der ebenso völlig negativen Befunde der klinischen Nachprüfer auffassen kann. Sie sind aber von prinzipieller Bedeutung und erfordern weitere Anstrengungen in der Richtung, wie sich die eisenaktivierende Wirkung der Bernsteinsäure mit der fehlenden antiketogenen Wirkung verträgt. Solche Versuche sind in der Zwischenzeit durch Fräulein Mahn in Gang gesetzt.

Nach dem eindeutig negativen Ausgang der Bernsteinsäureversuche haben wir uns der Frage der ketogenen Wirkung des Adrenalins zugewandt, die durch die oben erwähnten amerikanischen Autoren in Angriff genommen war.

Die Angaben dieser Autoren, daß Adrenalininjektion bei der Phloridzinazidosis der weißen Ratte stark ketogen wirke, konnten wir bestätigen. Als Beispiel wird der folgende Versuch angeführt:

	Zugabe	Diurese in ccm (3 Tiere)	Azetonkörper in 5 ccm Harn
1. Tag			
2. Tag			
3. Tag		15	1,0 mg
4. Tag		14	0,8 mg
5. Tag		15	0,5 mg
6. Tag		17	0,9 mg
7. Tag		16	1,4 mg
8. Tag		17	1,6 mg
9. Tag		16	1,6 mg
10. Tag	Adrenalin 1 : 10 000 0,5 ccm pro 100 g	20	3,5 mg
11. Tag	„	21	4,2 mg
12. Tag	„	12 (2 Tiere)	3,8 mg
13. Tag	„	12 (2 Tiere)	2,9 mg

Wie in allen Adrenalinversuchen beobachteten wir auch hier eine starke Diurese. In dieser Hinsicht scheint die Ratte

sich anders zu verhalten, als die meisten anderen Laboratoriumstiere, bei denen Adrenalin eine Diuresehemmung zur Folge hat. Die Tiere im wiedergegebenen Versuch sind offensichtlich stark vergiftet durch die vorhergehende Phloridzinbehandlung, da zwei von ihnen während des Versuchs zugrunde gehen. Trotzdem bleibt der Gehalt des Urins an Ketokörpern außerordentlich hoch, er beträgt umgerechnet auf die Gesamtharnmenge, die in 5 Stunden geliefert wurde, ungefähr das v i e r f a c h e des Normalen.

Im Anschluß an diese Adrenalinversuche haben wir uns mit der Frage beschäftigt, ob vielleicht die phloridzinvergifteten und infolgedessen stark azidotischen Tiere besonders stark auf Adrenalin reagieren. Diese Frage ist auch für die Praxis insofern von Bedeutung, als die häufigen Zwischenfälle nach Adrenalininjektion und die bekannte Ueberempfindlichkeit bestimmter Kranker nicht ganz geklärt ist.

Es wurden daher normale und phloridzinvergiftete Ratten mit steigenden Dosen von Adrenalin behandelt. Beim normalen Tier war 0,05 ccm Suprarenin (1 : 1000) die untere Grenzdosis, die noch Allgemeinerscheinungen auslöste; diese bestehen in Protrusion der Bulbi, eigentümliche opistotonusähnliche Streckbewegungen, besonders der hinteren Extremitäten, zeitweise schnappende Atembewegung, Erscheinungen, die etwa ½—1 Stunde anhielten. Bei phloridzinvergifteten Tieren waren die Erscheinungen nicht verstärkt. Die Azidosis wirkt daher nicht verstärkend auf die Adrenalinwirkung. Auch aus biologischen Gründen scheint uns eine solche Potenzierung eines Giftes durch ein selbsterzeugtes Stoffwechselprodukt weitgehend unwahrscheinlich.

In einer dritten Versuchsserie haben wir uns mit der ketogenen Wirkung der übrigen Stoffe der Adrenalingruppe beschäftigt. Eine solche Untersuchung dient zunächst allein der Sammlung des notwendigen Erfahrungsmaterials. Im Hintergrunde indessen steht das heute noch völlig ungelöste Problem, welchen biologischen Sinn das Auftreten von Azetonkörpern im Blut besitzt.

Die heutige Medizin erblickt darin ganz allgemein einen toxischen Faktor, der eine zunehmende Vergiftung des Körpers mit den Abbauprodukten von Fettsäuren und von gewissen Aminosäuren zur Folge hat und langsam zum azidotischen Coma herüberführt. Es sind aber auch bereits günstige Wirkungen der Azidosis beim Menschen beschrieben worden. So beweisen Green, Douglas und Kergin gelegentlich der Mount Everest Expedition, daß höhenempfindliche Menschen durch Darreichung von Ammoniumchlorid erheblich gebessert werden. Die Cyanose verschwindet, und es vermindert sich die vorher erheblich gesteigerte Herzfrequenz. Diese Erfahrung ist auch in der pneumatischen Kammer bestätigt worden [7]).

Von diesem Standpunkt aus gesehen, könnte auch die ketogene Wirkung des Adrenalins sich eingliedern in seine allgemein biologische Bedeutung als Notfallfunktion.

Um dieser wichtigen Frage näher zu kommen, war es nötig, festzustellen, welche andere sympathico-mimetischen Drogen die ketogene Wirkung des Adrenalins besitzen. Die Bearbeitung dieses wichtigen Gebietes ist notwendig geworden, da das Adrenalin einige für die Praxis unangenehme Mängel und Nebenwirkungen und bei gewissen Krankheitsfällen eine gefährlich toxische Seite besitzt.

Sein Versagen bei peroraler Dosierung, die möglich schwere Gewebsschädigung bei rektaler Anwendung, die kurze, aber nur einige Minuten anhaltende Sympathicuserregung bei intravenöser Injektion, die durch Adrenalin bedingte Nachblutung bei der Lokalanästhesie, die frühzeitig unangenehme Kreislaufwirkung Schwindel, Herzklopfen, Blässe und Ohnmacht können die Anwendung des Adrenalins erheblich einengen. Dazu treten die chronischen Giftwirkungen des Adrenalins, die sich bei Tier und Mensch in Arteriosklerose äußern. Riesser erwähnt einen jungen Asthmatiker, der als Folge

[7]) Hochsinger. Aerztliche Kraftfahrerzeitung 1937.

einer fortgesetzten Selbstbehandlung mit Adrenalin mit 25 Jahren an einer Ruptur der sklerotisierten Aorta starb.

Gefährlich aber ist die schlagartige Herzwirkung des Adrenalins mit Dissoziation von rechtem und linkem Herzen und gelegentlich übergehend in Kammerflimmern. Diese Nachteile des Adrenalins sind in anderen sympathicuserregenden Drogen weniger ausgeprägt.

Die älteste derartige Droge ist das Ephedrin aus der Ephedra vulgaris, eine alte chinesische Droge, deren Wirksamkeit wieder aufgedeckt wurde durch Chen und Schmidt und in vieler Hinsicht — besonders durch perorale und länger anhaltende Wirksamkeit — gegenüber dem Adrenalin eine Vorzugsstellung besitzt. Die übliche Dosis von 0,05 — 0,1 führt peroral oder rektal zu einer Blutdrucksteigerung von 20—40 mm, die einige Stunden anhält. Durch Konstitutionsaufklärung des Ephedrins gelangt man später zu den synthetischen Ersatzpräparaten, wie l. und r. Ephedrin, Ephedrol u. a.

	Zugabe	Diurese in ccm (3 Tiere)	Azetonkörper in 5 ccm Harn
1. Tag			
2. Tag			
3. Tag		16	2,2 mg
4. Tag		17	1,6 mg
5. Tag		15	1,3 mg
6. Tag		16	1,0 mg
7. Tag		16	1,8 mg
8. Tag		17	1,7 mg
9. Tag		16	1,9 mg
10. Tag		16	1,8 mg
11. Tag		17	1,8 mg
12. Tag	Ephedrin 5%ig 0,5 ccm pro 100 g	2,5 (!!!)	?
13. Tag	0,25 ccm pro 100 g	14	1,5 mg
14. Tag	„	13	1,0 mg
15. Tag		17	0,8 mg
16. Tag		16	2,2 mg
17. Tag		15	3,7 mg

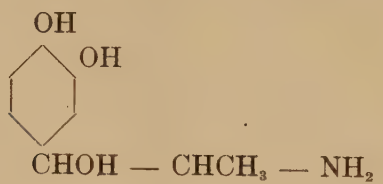
Ausgehend vom Tyramin, das zwar sympathicomimetisch wirkt, aber gegenüber dem Adrenalin zu schwach ist, fanden Trendelenburg und seine Mitarbeiter im Sympatol einen weiteren Stoff von Adrenalincharakter, der sich in der Praxis wegen seiner mild einsetzenden, aber starken Wirkung gegenüber dem schlagartig bedrohlichen Charakter des Adrenalins schnell durchgesetzt hat.

	Zugabe	Diurese in ccm (3 Tiere)	Azetonkörper in 5 ccm Harn
1. Tag			
2. Tag			
3. Tag		14	1,1 mg
4. Tag		15	0,8 mg
5. Tag		13	0,7 mg
6. Tag		14	0,5 mg
7. Tag		14	1,4 mg
8. Tag		15	1,5 mg
9. Tag		14	1,6 mg
10. Tag		16	1,7 mg
11. Tag		15	1,6 mg
12. Tag	Sympatol 2%ig 1 ccm pro 100 g s. c.	14	1,0 mg
13. Tag	„	12	1,2 mg
14. Tag	„	11	1,3 mg
15. Tag		15	3,7 mg
16. Tag		13	3,0 mg
17. Tag		10	1,5 mg

Eine weitere Substanz dieser Reihe ist das Corbasil, das in der Zahnheilkunde an Stelle des Adrenalins verwandt wird. Es besitzt eine merkwürdige Nebenwirkung insofern, als bei empfindlichen Personen akute Schwellungen der Schilddrüse auftreten können, die sogar schwere Erstickungssymptome zur Folge haben können; diese Nebenwirkung ist in ihrer Aetiologie bisher nicht aufgeklärt. Wie in folgendem gezeigt wird, fällt das Corbasil auch durch seine starke ketogene Wirkung aus der Reihe der übrigen synthetischen Sympathicusmittel heraus.

	Zugabe	Diurese in ccm (3 Tiere)	Azetonkörper in 5 ccm Harn
1. Tag			
2. Tag			
3. Tag		28	0,6 mg
4. Tag		27	1,0 mg
5. Tag	Corbasil 1%ig 0,05 ccm pro 100 g	19	1,9 mg
6. Tag	„	14	8,4 mg (!)
7. Tag		20	2,1 mg
8. Tag		26	1,7 mg

Im Ikoral ist neben der zentral analeptischen Substanz ein peripheres Kreislaufmittel von der Konstitution



enthalten, das Schaumann aus einer großen Reihe synthetischer Stoffe als besonders wirksam anerkannt hat, und deren Kombination mit dem von Eichholtz gefundenen Analepticum nach der Untersuchung von Weese besonders günstig ist.

	Zugabe	Diurese in ccm (3 Tiere)	Azetonkörper in 5 ccm Harn
1. Tag			
2. Tag			
3. Tag		19	1,5 mg
4. Tag		18	1,3 mg
5. Tag	Ikoral 0,5%ig 0,25 ccm pro 100 g	27	0,9 mg
6. Tag	„	28	0,7 mg
7. Tag		18	0,6 mg
8. Tag		18	0,8 mg

In letzter Zeit ist durch Rein u. a. noch das Veritol eingeführt worden, das indessen die Probe in der Praxis noch

nicht genügend bestanden hat und das daher hier nur zur Vervollständigung des Materials mit untersucht wurde:

	Zugabe	Diurese in ccm (3 Tiere)	Azetonkörper in 5 ccm Harn
1. Tag			
2. Tag			
3. Tag		25	2,7 mg
4. Tag		21	1,3 mg
5 Tag	Veritol 0,4%ig 1 ccm pro 100 g s. c.	20	0,9 mg
6. Tag	„	21	0,6 mg
7. Tag		20	0,6 mg
8. Tag		18	0,4 mg

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen sind in der folgenden Tabelle dargestellt. Aus ihr ergibt sich, daß in Hinsicht auf ketogene Wirkung nur das Corbasil an die Seite des Adrenalins gestellt werden kann. Die Dosierung beträgt bei den verschiedenen Stoffen ungefähr $^1/_{10}$ der letalen Dosis, die des Veritols ist niedriger genommen, da bei angewandter Dosis bereits starke Allgemeinerscheinungen wie Exophthalmus eintritt.

Substanz	Dosis pro 100 g	%-Verh. zur let. Dosis	Wirkung auf: Diurese	Azeton
Adrenalin	0,5 ccm (1 : 10 000)	12,5 %	+ +	+ +
Sympatol	1,0 ccm (2 : 100)	10 %	+	—
Sympatol	1,0 ccm (2 : 100)	10 %	— —	— —
Sympatol	1,0 ccm (2 : 100)	10 %	—	—
Ephedrin	0,5 ccm (5 : 100)	25 %	— — —	?
Ephedrin	0,25 ccm (5 : 100)	12,5 %	—	— —
Corbasil	0,05 ccm (1 : 100)	12,5 %	—	+ +
Corbasil	0,05 ccm (1 : 100)	12,5 %	— —	+ + +
Corbasil	0,05 ccm (1 : 100)	12,5 %	—	+ +
Corbasil	0,05 ccm (1 : 100)	12,5 %	— —	+ +
Corbasil	0,025 ccm (1 : 100)	6,25 %	— — —	—
Corbasil	0,025 ccm (1 : 100)	6,25 %	— —	—
Ikoral	0,5 ccm (0,5 : 100)	16,6 %	+ + +	+
Ikoral	0,5 ccm (0,5 : 100)	16,6 %	+ + +	—
Ikoral	0,25 ccm (0,5 : 100)	8,3 %	+ + +	—
Veritol	0,5 ccm (0,4 : 100)	3,3 %	+	—
Veritol	1,0 ccm (0,4 : 100)	6,6 %	+	—

Zusammenfassung.

1. Die von Szent Györgyi für die diabetische Azidosis behauptete antiketogene Wirkung der Bernsteinsäure, die von anderer Seite ebenso entschieden bestritten wird, ist bei der Phloridzinazidosis der Ratte n i c h t nachzuweisen.

2. Die ketogene Wirkung des Adrenalins bei der Phloridzinazidosis wird bestätigt. Die möglich biologische Bedeutung dieser Reaktion wird erörtert.

3. Die folgenden sympathico-mimetischen Drogen werden auf ketogene Wirksamkeit untersucht: Sympatol, Ephedrin, Corbasil, Ikoral und Veritol; von diesen ist nur das Corbasil ketogen aktiv.

Am Ende meiner Arbeit sei es mir gestattet, Herrn Prof. Dr. F. Eichholtz für die freundliche Ueberlassung des Themas und für die Uebernahme des Referats meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Lebenslauf.

Als Sohn des Peter Daum, Maschinensteiger, und seiner Ehefrau Emma, geb. Riebeck, wurde ich am 21. Januar 1912 zu Neunkirchen-Saar geboren. Nach Besuch der Volksschule und des Realgymnasiums legte ich Ostern 1932 daselbst die Reifeprüfung ab. Im Sommersemester 1932 begann ich mein Studium der Zahnheilkunde in Heidelberg, wo ich am 24. Mai 1937 das zahnärztliche Staatsexamen bestand. Seit dieser Zeit arbeitete ich im Pharmakologischen Institut der Universität Heidelberg.